

キンギョの血漿Ca及びカルシトニン濃度に及ぼすビスフェノールAの影響

鈴木信雄

〒927-0553 珠洲郡内浦町小木 金沢大学自然計測応用研究センター, 臨海実験施設

Nobuo Suzuki: Effects of bisphenol A on the plasma calcium and calcitonin concentrations in goldfish

魚類においてエストロゲンは、生殖時に肝臓に作用し、卵黄タンパク質であるビテロゲニンの合成を促進する。またエストロゲンは、ウロコの破骨細胞を活性化させ、ウロコからのカルシウムの溶出を促進し、血液中のカルシウム濃度を上昇させることも知られている。さらにエストロゲンを未成熟なキンギョやサケ科魚類に投与すると、血液中のカルシウム濃度を調節するホルモンであるカルシトニンの分泌が促進されることも報告されている。最近我々は、ウロコの培養系により、エストロゲンにより活性化された破骨細胞がカルシトニンにより抑制されることを証明した。したがって、魚類の生殖時には、エストロゲンとカルシトニンの相互作用により、血液中のカルシウム濃度が調節されていると考えられる。

ビスフェノールAは、主としてポリカーボネートやエポキシ樹脂の原料として使用され、食品の包装等に広く用いられている。最近、この物質は女性ホルモンであるエストロゲンの受容体と結合し、エストロゲン様の作用が現れるために、生殖を攪乱することがわかってきた。エストロゲンは脊椎動物のカルシウム代謝にも作用するため、ビスフェノールAも何らかの影響を及ぼす可能性が考えられるが、ビスフェノールAのカルシウム代謝に及ぼす影響は調べられていない。

そこで本研究においては、ビスフェノールAのカルシウム代謝に及ぼす影響を調べるため、ビスフェノールAで処理したキンギョの血液中カルシウム及びカルシトニン濃度を調べた。

内因性のエストロゲンの影響を除くため、未成熟のキンギョ（体重5g前後）を実験に用いた。まずキンギョ8匹をMS222（Aldrich）で麻酔し、エラからペパリン処理したガラス毛細管を用いて血液を採取した。その後、遠心機で血漿を分離し、分析まで-20℃で保存した。次に、48匹を2群に分けた。実験群は、ビスフェノールA（和光）（ 10^{-6} M）を含む水で飼育し、対照群は水道水で飼育した。これらのキンギョは、2、4及び8日後にそれぞれ8匹ずつ、前述の方法で麻酔し、血液を採取した。血漿Ca濃度は、カルシウム-Cテストワコー（WAKO）を用いて測定し、カルシトニン濃度はサケカルシトニン抗体（コスモバイオ）を用いたエライサ法により測定した。さらに、血液中に卵黄タンパク質の1種であるビテロゲニンを検出するため、Laemmliの方法によりSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った。なお、サンプルは8日後の血漿を用い、分離ゲルは7.5%アクリルアミドを使用した。電気泳動後、クマジーブリリアントブルーR250（Research Organics Inc.）によりゲルを染色し、ビテロゲニンを検出した。

血液中のカルシウム濃度の変化をFig.1に示し、カルシトニン濃度の変化をFig.2に示す。血液中のカルシウム濃度は、ビスフェノールAを含む水で4日間飼育した時、コントロール（ 7.34 ± 0.11 mg/100ml）よりも有意に上昇した（ $P < 0.001$, 8.94 ± 0.25 mg/100ml）。しかしながら、8日後には、コントロール（ 7.28 ± 0.39 mg/100ml）よりも有意に低下し（ $P < 0.05$, 5.96 ± 0.42 mg/100ml）、ビスフェノールAは血液中のカルシウム濃度に影響を及ぼすことがわかった。

一方、血液中のカルシトニン濃度は、ビスフェノールAを含む飼育水で飼育すると、その濃度は徐々に低下し、8日後には、コントロール（ 209.11 ± 37.99 pg/ml）との間に有意差が認められた（ $P < 0.05$, 117.50 ± 10.86 pg/ml）。なお、電気泳動により、実験群の血漿中にビテロゲニンは検出されたが、コントロール群にはそのバンドはみられなかった。

以上のことから、ビスフェノールAは、エストロゲン受容体と結合し、ビテログニンの合成を促す作用はある。しかしながら、カルシウム代謝における作用は、エストロゲンとは異なっており、血液中のカルシウム及びカルシトニン濃度を逆に低下させていることがわかった。さらに我々は、ウロコの骨細胞における作用をエストロゲンと比較してみると、エストロゲンは破骨及び骨芽細胞を活性化させたが、ビスフェノールAは逆にこれら両方の細胞活性を阻害したという結果を報告している。したがって、ビスフェノールAはエストロゲンと異なり、魚類のカルシウム代謝に悪影響を及ぼしていることがわかった。今後、他のカルシウム代謝に関与するホルモンに及ぼす影響について調べると共に、ビスフェノールA以外の内分泌攪乱化学物質についても調べていく予定である。

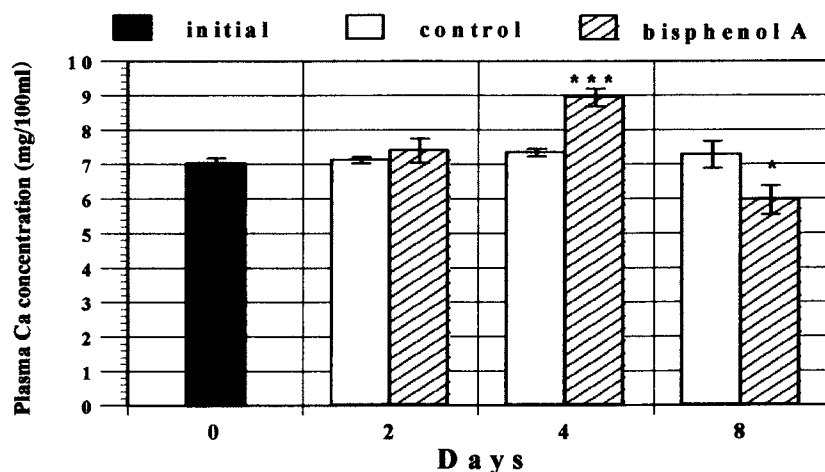


Fig. 1 Plasma calcium (Ca) levels in the bisphenol A-treated goldfish and control goldfish. Values are means \pm SEM. *,*** indicate statistically significant differences at $P<0.05$ and $P<0.001$, respectively, compared with the values in the control.

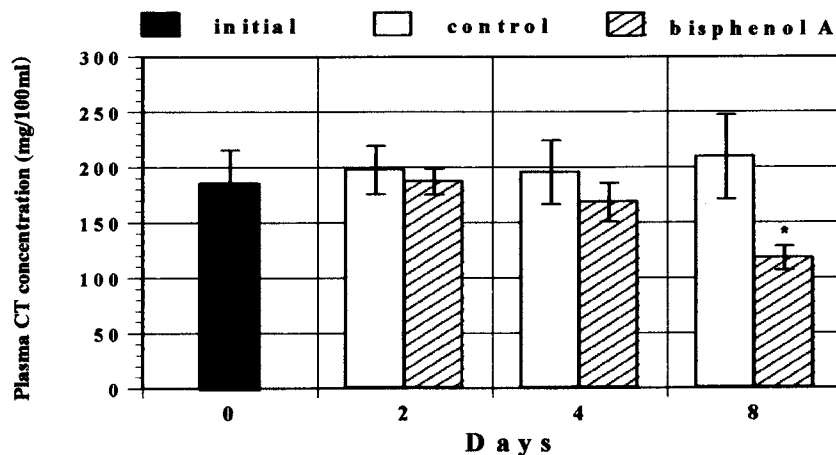


Fig. 2 Plasma calcitonin (CT) levels in the bisphenol A-treated goldfish and control goldfish. Values are means \pm SEM. * indicates a statistically significant difference at $P<0.05$, compared with the values in the control.

謝辞

本研究は科学研究費，若手研究B（14740455）の援助により行われた。